

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

CYANIDSPIEGEL IM BLUT
BEI RAUCHERN UND NICHTRAUCHERN
BESTIMMT NACH
FELDSTEIN UND KLENDSHOJ

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Wolfgang Schmutterer
aus Kipfenberg

1980
—

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

CYANIDSPIEGEL IM BLUT
BEI RAUCHERN UND NICHTRAUCHERN
BESTIMMT NACH
FELDSTEIN UND KLENDSHOJ

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Wolfgang Schmutterer
aus Kipfenberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Prof. Dr.Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling
Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.1980

Disposition :

	Seite
1. Einleitung	1
2. Frühere Untersuchungen über den Cyanidgehalt des menschlichen Blutes	3
3. Problemstellung	8
4. Eigene Untersuchungen	
4.1. Methode	9
4.2. Geräte, Chemikalien und Lösungen	9
4.2.1. Geräte	
4.2.2. Chemikalien	
4.2.3. Lösungen	
4.2.4. Vergleichsstandards	
4.3. Arbeitsvorschrift	11
4.3.1. Überführung des Cyanids aus der Untersuchungslösung in Natronlauge	
4.3.2. Analytische Bestimmung des Cyanids	
4.4. Beurteilung des Verfahrens	12
4.4.1. Nachweisgrenze	
4.4.2. Präzision	
4.4.3. Richtigkeit	
4.5. Erstellung der Eichkurven	13
4.5.1. Erstellung der Cyanid-Eichkurve in n / 10 Natronlauge	
4.5.2. Erstellung der Cyanid-Eichkurve in Vollblut	
4.6. Probeentnahme	17
4.7. Cyanidbestimmung im Probandenblut	17
4.8. Berechnung der Analysenergebnisse	18
4.9. Untersuchungsergebnisse	19
5. Diskussion	24
6. Zusammenfassung	26
7. Literaturangaben	27



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Die Blausäure und ihre Salze wirken toxisch auf den menschlichen Organismus, indem sie u. a. die Cytochromoxidase und damit die Zellatmung blockieren. Sie werden heute noch in Labor, Landwirtschaft und Industrie vielseitig verwandt. Aus tödlichen Vergiftungen bei Ingestion konnte man schließen, daß 1 mg Cyanid / kg Körpergewicht ausreichen, um einen Menschen zu töten (HENSCHLER 1972/74).

Es gibt mehrere Enzyme, die Cyanid zu Thiocyanat abbauen. Am bekanntesten ist die Rhodanese (E C 2.8.1.1), die folgende Reaktion katalysiert :



Weitere Enzyme, die Cyanid entgiften, sind die Transsulfurase, sowie eine Peroxidase (MAEHLY 1970).

Der Entgiftungsmechanismus verläuft außerordentlich schnell, maximal werden ca. 1 mg Cyanid / kg Körpergewicht in einer Stunde entgiftet (HENSCHLER 1972/74).

Gut bekannt ist das Bild der akuten Blausäurevergiftung, meist in suizidaler Absicht, aber auch als Unfall z.B. bei Laborarbeiten mit Blausäure oder bei der Metallhärtung in bestimmten Industriebetrieben. Da der Sauerstoff im Gewebe nicht mehr verwertet werden kann, zeigen sich die Symptome einer inneren Erstickung : Nach Sekunden bis Minuten kommt es zu Hyperpnoe und rosiger Hautfarbe durch Arterialisierung des Venenblutes. Später treten Unwohlsein , Erbrechen und

hypoxidotische Krämpfe hinzu. Da die Chemorezeptoren des Carotissinus besonders empfindlich reagieren, tritt der Tod meist durch zentrale Atemlähmung ein (FORTH 1975).

Weniger bekannt ist über die chronische Toxizität von Cyanid, welches z.B. aus der Luft am Arbeitsplatz oder mit der Nahrung aufgenommen werden kann. Aber auch durch Inhalation von Zigarettenrauch kann Cyanid aufgenommen werden (OSBORNE 1956, SCHIEVELBEIN 1968, Junge 1978). In der Gasphase des Zigarettenrauchs sind 0,16 % Cyanid enthalten (OSBORNE 1956, SCHIEVELBEIN 1968), das entspricht ca. 1 mg Cyanid pro Zigarette. Wird innerhalb 10 Minuten eine Zigarette geraucht, so führt dies bei einer Resorptionsquote von 75 % (SCHIEVELBEIN 1968), zu einer Aufnahme von 0,75 mg Cyanid. Ein 70 kg schwerer Mensch nimmt somit 0,064 mg Cyanid / kg in einer Stunde auf. Im Stoffwechsel können jedoch ca. 15 mal soviel entgiftet werden (1 mg / kg in einer Stunde) . Eine wesentliche Erhöhung der Cyanid-Konzentration im Blut, oder gar eine Cyanidvergiftung sind also beim Rauchen nicht zu erwarten. Jedoch steigt die Thiocyanat-Konzentration im Blut erheblich an wie frühere Arbeiten bewiesen haben (MALISZEWSKI 1955, WILSON 1966, PETTIGREW 1972, ANDREWS 1973, PETTIGREW 1977, JUNGE 1978).

2. Frühere Untersuchungen über den Cyanidgehalt des menschlichen Blutes

Der Cyanidspiegel im menschlichen Blut ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Meistens wurde untersucht, ob sich Unterschiede ergaben zwischen Personen, die ständig kleinere Mengen Cyanid aufnehmen (z.B. Raucher, Cyanid-exponierte Industriearbeiter) und solchen, die nicht Cyanid-exponiert waren.

FELDSTEIN und KLENDSHOJ (1953) wandten die Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY (1950) an, um Cyanid aus Plasma in n/10 Natronlauge überzuführen. Anschließend bestimmten sie Cyanid photometrisch nach der Methode von BOXER und RICKARDS (1952). Bei 10 Normalpersonen und 10 Patienten mit Multipler Sklerose fanden sie mittlere Cyanid-Spiegel im Plasma von 48 ng / ml bez. 56 ng / ml .

WILSON und MATTHEWS (1965) verglichen die Plasmakonzentrationen von Cyanid, Thiocyanat und Vitamin B 12 bei 17 Rauchern und 10 Nichtrauchern. Nachdem sie Blut heparinisiert hatten, trennten sie das Plasma sofort ab und führten Cyanid nach der Mikrodiffusionsmethode in n/10 Natronlauge über. Anschließend bestimmten sie Cyanid spektrphotometrisch nach ALDRIDGE (1945) und BOXER und RICKARDS (1950).

Sie fanden mittlere Cyanidwerte von 5,1 ng / ml bei den Rauchern und 4,2 ng / ml bei Nichtraucher. Der höhere Durchschnittswert bei Rauchern ist von Durchschnittswert bei Nichtrauchern nicht signifikant verschieden. Dies war die erste vergleichende Untersuchung der Plasma-Cyanid-Konzentrationen von Rauchern und Nichtrauchern. Die Werte lagen eine Zehnerpotenz unter denjenigen von FELDSTEIN und KLFNDSHOJ (1953).

Die Cyanid-Konzentrationen, die im Plasma gemessen werden, entsprechen jedoch, wie BAAR (1966) und BALLANTYNE, BRIGHT und WILLIAMS (1973) nachgewiesen haben, nicht immer den Cyanid-Konzentrationen im Vollblut, da Cyanid aus dem Plasma schnell verschwindet. In späteren Arbeiten wurde deshalb Cyanid direkt aus Vollblut bestimmt.

MAFHLY (1970) stellte aus Blut ein das Cyanid enthaltendes Destillat her und bestimmte anschließend Cyanid photometrisch. Er fand im Blut von 19 im übrigen nicht gegen Cyanid exponierten Rauchern eine mittlere Cyanid-Konzentration des Blutes von 50 ng / ml. Bei 6 nicht-exponierten Nichtrauchern fand er einen Mittelwert von 64 ng / ml. Die Werte waren nicht signifikant verschieden.

PETTIGREW und FELL (1972) untersuchten die Blut-Cyanid-Konzentrationen bei 11 Rauchern, 9 Nichtrauchern und 12 Personen, die an einer durch starkes Rauchen hervorgerufenen Vitamin B 12 Mangelkrankheit ("toxic amblyopia") litten. Sie wählten wieder die Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY an und bestimmten anschließend Cyanid photometrisch nach der Methode von BARK und HIGSON (1964). Sie fanden bei Rauchern mittlere Cyanidwerte von 21 ng / ml, bei Nichtrauchern von 39 ng / ml und bei den an der Vitamin B 12 Stoffwechselstörung erkrankten Personen von 36 ng / ml . Alle Werte waren nicht signifikant verschieden. Mit derselben Methode bestimmten PETTIGREW, LOGAN und WILLOCKS (1976) zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft die Cyanidspiegel im Blut von 28 schwangeren Frauen, von denen 14 Raucherinnen waren. Die mittleren Cyanid-Konzentrationen betrugen bei den Raucherinnen nach 28 Wochen Schwangerschaft 69 ng / ml, nach 32 Wochen 54 ng / ml, nach 36 Wochen 48 ng / ml und zum Zeitpunkt der Entbindung 21 ng / ml. Bei den Nichtraucherinnen ergaben sich nach 28 Wochen Schwangerschaft 27 ng / ml, nach 32 Wochen 29 ng / ml, nach 36 Wochen 26 ng / ml und zum Zeitpunkt der Entbindung 21 ng / ml. Damit ergaben sich erstmals bei einer vergleichenden Untersuchung zwischen Rauchern und Nichtrauchern signifikante Unterschiede. Nach 28 und nach 32 Wochen

Schwangerschaft waren die Cyanid-Konzentrationen bei den Raucherinnen signifikant höher als bei den Nichtraucherinnen. Nach 36 Wochen und zum Zeitpunkt der Entbindung waren die Werte bei den Raucherinnen im Mittel ebenfalls höher, aber nicht signifikant verschieden von den nicht rauchenden Schwangeren. BALLANTYNE (1977) untersuchte den Einfluß verschiedener Lagerungstemperaturen auf die Cyanid- und Thiocyanat-Konzentrationen im Blut von Rauchern und Nichtrauchern. Er trennte Cyanid von Blut wieder nach der Mikrodiffusionsmethode und bestimmte es photometrisch nach einer modifizierten Methode von EPSTEIN (1947). Sofort nach der Blutentnahme ergab sich bei 14 Rauchern ein Mittelwert von 41 ng Cyanid / ml Blut, bei 10 Nichtrauchern ein Mittelwert von 16 ng Cyanid / ml Blut. Der Mittelwert bei den Nichtrauchern war signifikant kleiner als der Mittelwert bei den Rauchern . Außerdem lag er erheblich unter den bisher gefundenen Durchschnittswerten für Nichtraucher.

Falls Cyanid erst mehrere Wochen nach der Blutentnahme bestimmt wird, so sollte das Blut nur bei 4 °C aufbewahrt werden. BALLANTYNE (1977) fand nämlich, daß der Cyanidgehalt des Blutes bei 4 °C nahezu konstant bleibt, jedoch bei + 20 °C Lagerungstemperatur abfällt und bei - 20 °C ansteigt.

Die folgende Tabelle 1 gibt eine Zusammenstellung bisher gefundener Cyanid-Konzentrationen im Plasma und im Vollblut bei Rauchern und Nichtrauchern.

Tabelle 1 : Untersuchungsergebnisse früherer Autoren über die Cyanid-Konzentrationen im Plasma und im Vollblut bei Rauchern und Nichtrauchern

Autor	Unters.- material	Zahl der Proband.		mittl. CN ⁻ - Konz. (ng/ml)		Unter- schied
		R	NR	R	NR	
WILSON und MATTEWS 1965	Plasma	17	10	5,1	4,2	NS
MAFHLV 1970	Blut	19	6	50	64	NS
PETTIGREW u. FEHL 1972	Blut	11	9	21	39	NS
PETTIGREW,	Blut	12	11	69	27	S
LOGAN und	Blut	12	9	54	29	S
WILLOCKS	Blut	11	5	48	26	NS
1976	Blut	3	3	47	21	NS
BAJANTYNE 1977	Blut	14	10	41	16	S

S : signifikanter Unterschied zwischen Rauchern (R)
und Nichtrauchern (NR) ,

NS : nicht-signifikanter Unterschied .

3. Problemstellung

Aus der Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß die bisherigen Untersuchungsergebnisse kein einheitliches Bild zeigen. Es ergaben sich bei drei Untersuchungen signifikante Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern, in den anderen fünf Untersuchungen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Außerdem unterschieden sich die höchsten Durchschnittswerte (69 ng CN^- / ml Blut bei den Rauchern und 64 ng / ml Blut bei den Nichtrauchern) um mehr als eine Zehnerpotenz von den niedrigsten (5,1 ng CN^- / ml Plasma bez. 4,2 ng CN^- / ml Plasma). Berücksichtigt man nur die Untersuchungen im Vollblut, so wichen die Durchschnittswerte immerhin bis um das vierfache voneinander ab.

Die unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse sind möglicherweise darauf zurückzuführen, daß verschiedene Methoden zur Cyanidbestimmung verwandt wurden, und die Zahl der untersuchten Probanden jeweils zu klein war.

Diese Widersprüche in Signifikanz und Größenordnung der Durchschnittswerte veranlaßten uns eigene Untersuchungen an einer größeren Zahl von Probanden (30 Raucher und 30 Nichtraucher) durchzuführen.

4. Eigene Untersuchungen

4.1. Methode

Der aus dem Untersuchungsmaterial mit Schwefelsäure freigesetzte Cyanwasserstoff diffundiert in Natronlauge (Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY (1950)). Hierin erfolgt die Umsetzung mit Pyridin-Barbitursäure-Reagenz. Die entstandene Violettfärbung wird photometrisch gemessen (FELDSTEIN 1957) .

4.2. Geräte, Chemikalien und Lösungen

4.2.1. Geräte

Spektrophotometer mit Meßmöglichkeit bei 486 nm

Präzisionswaage

Conway-Schälchen, ca 6 cm Ø, innere Kammer ca 3 cm Ø,

Rand mit Vaseline gefettet

Schliffreagenzgläser

Pipetten

Monovetten, heparinisiert

4.2.2. Chemikalien

Barbitursäure, wasserfrei

Pyridin

Salzsäure, rauchend

Natriumhydrogenphosphat, wasserfrei

Chloramin-T, wasserfrei

Kaliumcyanid, wasserfrei

Natriumhydroxid, wasserfrei

4.2.3. Lösungen

Natriumhydrogenphosphatpuffer, 0,1 molar :

13,8 g Natriumhydrogenphosphat in dest. Wasser zu 100 ml lösen

Schwefelsäure 10 %

Barbitursäurereagenz : 3 g Barbitursäure in ca. 25 ml dest. Wasser emulgieren, ca 10 Minuten schütteln, 15 ml Pyridin hinzugeben, ca. 15 Minuten schütteln bis eine klare Lösung entsteht, 3 ml rauchende Salzsäure hinzugeben, mit dest. Wasser auf 50 ml auffüllen; täglich frisch bereiten.

Chloramin-T-Lösung, 0,25 % : 0,25 g Chloramin-T in dest. Wasser zu 100 ml lösen

Natronlauge, 1/10 normal : 2,8 g Natriumhydroxid in dest. Wasser zu 1000 ml lösen

4.2.4. Vergleichsstandards

Cyanidlösungen, 10^{-5} g CN^- / ml NaOH und

10^{-6} g CN^- / ml NaOH : 250 mg Kaliumcyanid mit n/10 Natronlauge zu 100 ml lösen. Von dieser Verdünnung 1 ml mit NaOH zu 100 ml, bez. 0,1 ml von der Verdünnung zu 100 ml NaOH lösen. Durch entsprechende Verdünnungen mit NaOH werden hieraus Eichlösungen von 10 ng CN^- / ml NaOH bis 300 ng CN^- / ml NaOH hergestellt.

Blut-Cyanid-Lösungen : Aus den Cyanidlösungen werden durch entsprechende Verdünnungen mit Blut Blut-Cyanid-Lösungen, enthaltend $10 \text{ ng CN}^- / \text{ml Blut}$ bis $250 \text{ ng} / \text{ml Blut}$, hergestellt (z.B. ergibt $0,25 \text{ ml}$ der Cyanidlösung $10^{-6} \text{ g} / \text{ml}$ und $4,75 \text{ ml Blut}$ eine Probe mit $50 \text{ ng CN}^- / \text{ml Blut}$) .

4.3. Arbeitsvorschrift

4.3.1. Überführung des Cyanids aus der Untersuchungslösung in Natronlauge

In die innere Kammer eines Conway-Schälchens stellt man ein kleines Schälchen, das 2 ml $n/10$ Natronlauge enthält. In die äußere Kammer werden 2 ml einer Untersuchungslösung und an einer anderen Stelle der äußeren Kammer 1 ml 10 prozentige Schwefelsäure pipettiert. Dann wird das Conway-Schälchen luftdicht verschlossen und leicht geschwenkt, so daß sich die Schwefelsäure mit der Untersuchungslösung vermischt. Das Cyanid, das in dem Blutgemisch als CN^- Jon vorliegt, geht infolge des niedrigen pH-Wertes in die gasförmige Phase als HCN über. Von der stark alkalischen Natronlauge wird es aufgefangen, indem es wieder in das Cyanid-Jon überführt wird. Nach drei Stunden wird das Conway-Schälchen wieder geöffnet, da sich das Cyanid dann weitgehend in der Natronlauge befindet. (FEILSTEIN 1954) .

4.3.2. Analytische Bestimmung des Cyanids

In ein Reagenzglas werden 0,5 ml der Natronlauge, in die das Cyanid durch Diffusion übergegangen ist, pipettiert. Hierzu werden nacheinander 1 ml Puffer und 0,5 ml der Chloramin-T-Lösung gegeben. 3 Minuten nach Zugabe der Chloramin-T-Lösung wird das Gemisch mit 1,5 ml Barbitursäurereagenz versetzt. Das Gemisch färbt sich rasch violett. 3 Minuten nach Zugabe des Barbitursäurereagenz wird die Extinktion bei 586 nm gegen einen gleich behandelten Blindansatz (0,5 ml dest. Wasser statt der Natronlauge) photometrisch bestimmt.

4.4. Beurteilung des Verfahrens

4.4.1. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze in wässriger Lösung liegt bei 10 ng CN^- / ml NaOH.

4.4.2. Präzision

Aus jeweils 12 Einzelbestimmungen mit Zusatz von Cyanid zu Blut in Konzentrationen von 50 ng /ml bez. 100 ng / ml wurde eine Präzision von 10 % bez. 7 % bestimmt. Das Blut des Probanden Nr.1 der Raucher und Nr. 1 der Nichtraucher wurde jeweils achtmal analysiert. Hier ergab sich eine Präzision von 12 % bez. 23 % .

4.4.3. Richtigkeit

Um die Richtigkeit zu ermitteln, wurden insgesamt 70 Einzelanalysen mit 8 verschiedenen Blutproben durchgeführt. Zunächst wurden die Ausgangsextinktionen der Blutproben (ohne Cyanidzusatz) nach dem oben angegebenen Verfahren ermittelt. Anschließend wurde Cyanid in Konzentrationen von 10, 20, 30, 50, 70, 100, 150, 200 und 250 ng / ml zugesetzt, die Extinktionen ermittelt und hiervon die Ausgangsextinktionen wieder abgezogen. Die einzelnen Extinktionen sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Im Vergleich mit den Extinktionen von Cyanid in n/10 Natronlauge (Tabelle 2) ergab sich eine Wiederfindung des zu Blut beigemischten Cyanids von durchschnittlich 93,4 %. In Abb. 1 wird dies anschaulich am Abweichen der Kurve Cyanid in Vollblut von der Kurve Cyanid in n/10 Natronlauge.

4.5. Erstellung der Eichkurven

4.5.1. Erstellung der Cyanid-Eichkurve in n/10 Natronlauge

Um eventuelle Verluste angeben zu können, die bei den Analysen von Cyanid in Blut auftreten können, ist vorher eine Eichkurve nötig, die jeder Cyanid-Konzentration einer Lösung die entsprechende Extinktion zuordnet. Eine Eichkurve von Cyanid in n/10 Natronlauge erfüllt dies annähernd.

Die folgende Tabelle 2 gibt die gemessenen Extinktionen an, die sich ergeben, wenn man die Cyanid-Konzentrationen der Eichlösungen 10 ng CN⁻ / ml NaOH bis 300 ng CN⁻ / ml NaOH nach dem oben angegebenen Verfahren analytisch bestimmt. Zu den errechneten Mittelwerten der Extinktionen ($\bar{x}$) werden die Standardabweichungen (s) und die Variationskoeffizienten (VK) angegeben.

Tabelle 2 : Werte zur Aufstellung einer Eichkurve
mit Cyanid-Lösungen in n/10 NaOH

CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Ext.	$\bar{x} \pm s$	VK
10	0.025 0.026 0.024 0.019 0.013 0.018 0.020 0.015 0.010 0.012	0.018 $\pm$ 0.006	31%
20	0.040 0.041 0.040 0.035 0.023 0.027 0.030 0.025 0.025 0.025	0.031 $\pm$ 0.007	23%
30	0.052 0.052 0.055 0.052 0.038 0.045 0.042 0.042 0.035 0.035	0.045 $\pm$ 0.007	17%
50	0.072 0.067 0.070 0.062 0.065 0.065 0.065 0.058 0.055 0.060	0.064 $\pm$ 0.005	8%
70	0.092 0.089 0.095 0.087 0.078 0.085 0.080 0.080	0.086 $\pm$ 0.006	7%
100	0.115 0.105 0.105 0.105 0.125 0.120 0.117 0.127 0.117 0.103 0.120 0.125 0.125 0.120 0.105	0.116 $\pm$ 0.009	7%
150	0.170 0.170 0.175 0.172 0.175 0.180 0.175 0.170	0.174 $\pm$ 0.004	2%
200	0.218 0.229 0.226 0.217 0.230 0.240 0.230 0.235 0.220	0.227 $\pm$ 0.008	3%
250	0.270 0.280 0.282 0.267 0.270 0.275	0.274 $\pm$ 0.006	2%
300	0.310 0.320 0.315 0.315 0.335	0.319 $\pm$ 0.010	3%

4.5.2. Erstellung der Cyanid-Eichkurve in Vollblut

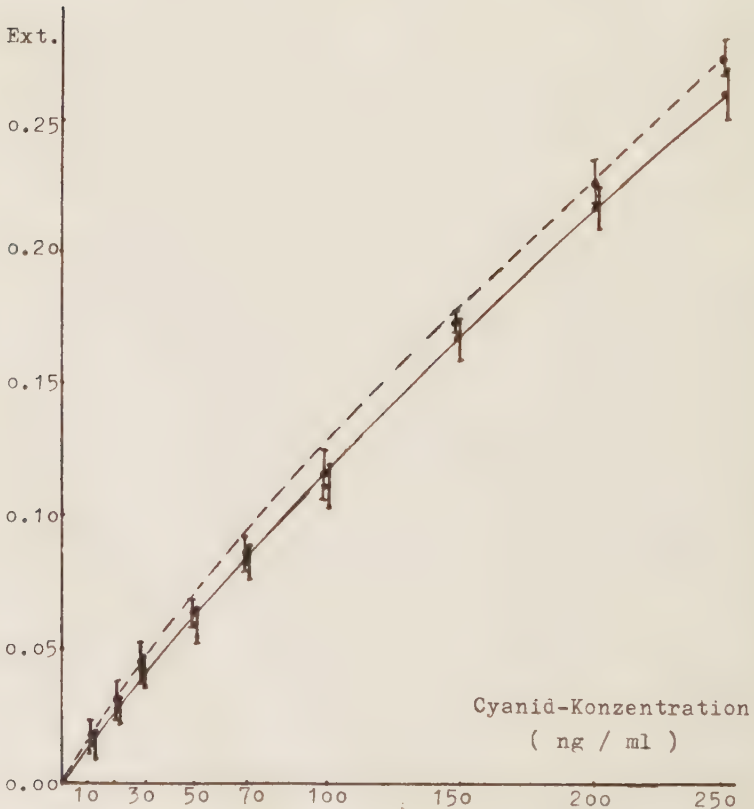
In der folgenden Tabelle 3 sind die gemessenen Extinktionen eingetragen, die sich ergeben, wenn aus den Blut-Cyanid-Lösungen von 10 ng CN^- / ml Blut bis 250 ng CN^- / ml Blut Cyanid durch Diffusion in Natronlauge überführt wird und hierin nach dem oben angegebenen Verfahren analytisch bestimmt wird.

Tabelle 3 : Werte zur Aufstellung einer Eichkurve
mit Cyanid-Lösungen in Vollblut

CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Fxt. der Proben aus Schälchen Nr.						$\bar{x} \pm s$	VK
	1	2	3	4	5	6		
10	0.012 0.017	0.007 0.014	0.024 0.020	0.012 0.015			0.015 $\pm$ 0.005	
20	0.019 0.022	0.037 0.029	0.027 0.027	0.024 0.027			0.027 $\pm$ 0.005	
30	0.035 0.039	0.047 0.042	0.042 0.037	0.052 0.047			0.043 $\pm$ 0.006	
50	0.064 0.064	0.059 0.049	0.059 0.064	0.059 0.059	0.069 0.059	0.049 0.054	0.059 $\pm$ 0.006	10%
70	0.090 0.090	0.080 0.075	0.090 0.085				0.085 $\pm$ 0.006	
100	0.115 0.125	0.120 0.125	0.110 0.115	0.109 0.104	0.114 0.109	0.104 0.099	0.112 $\pm$ 0.008	7%
150	0.169 0.174	0.174 0.174	0.164 0.154				0.168 $\pm$ 0.008	
200	0.224 0.219	0.214 0.224	0.204 0.209				0.216 $\pm$ 0.008	
250	0.270 0.260	0.260 0.250					0.260 $\pm$ 0.008	

In der folgenden Abb. 1 stellt die obere Kurve die Extinktionen und die Standardabweichungen des direkt (ohne Mikrodifffusion) bestimmten Cyanids in n/10 Natronlauge (s. Tabelle 2) dar, die untere Kurve die Extinktionen und Standardabweichungen für Cyanid, das aus Vollblut durch Mikrodifffusion nach CONWAY und anschließende Analyse bestimmt wurde (s. Tabelle 3).

Abb. 1 : Eichkurve für direkt aus n/10 NaOH bestimmtes Cyanid (obere Kurve) und für Cyanid aus Vollblut durch Mikrodifffusion und anschließende Analyse bestimmt.



4.6. Probeentnahme

Für die Blutentnahme zur Cyanidbestimmung stellten sich 30 Raucher und 30 Nichtraucher zur Verfügung. Mit heparinisierten Monovetten der Firma Sarstedt wurden ca. 10 ml venöses Blut entnommen. Die Raucher wurden dabei gefragt, wieviele Zigaretten sie am Tag der Blutentnahme bisher geraucht und vor welcher Zeit sie die letzte Zigarette geraucht hatten. Das Blut wurde über Nacht (ca. 14 Stunden) gut verschlossen im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Aus Versuchen von PETTIGREW und FELL (1973), BALLANTYNE (1977) und FESTL (1979) ist bekannt, daß während dieser Zeit der Cyanidspiegel im Vollblut nicht nachweisbar abfällt.

4.7. Cyanidbestimmung im Probandenblut

Hier wurde ähnlich verfahren, wie in der Arbeitsvorschrift 4.3. angegeben. Jedoch enthielt bei den anfänglichen Analysen das Schälchen in der Mitte 1,5 ml n/10 Natronlauge, die äußere Kammer 0.75 ml zehnprozentige Schwefelsäure und 1,5 ml Probandenblut. Bei den photometrischen Messungen ergaben sich sehr kleine Extinktionen. Deshalb wurde bei späteren Analysen in die äußere Kammer des Conway-Schälchens 2 ml Blut und in das innere Schälchen 1,2 ml Natronlauge pipettiert. Dadurch wurde die Cyanid-Konzentration in der Natronlauge im Verhältnis 2 : 1,2 höher. Nunmehr kommen wir

mit den zu messenden Cyanid-Konzentrationen in einen Bereich für den die Präzision im Durchschnitt ca. 7 % beträgt. Versuche mit höherer Konzentrierung führten nicht zu brauchbaren Ergebnissen. Um Fehler möglichst klein zu halten, wurden für jede Blutprobe mehrere Schälchen angesetzt und pro Schälchen zwei Analysen durchgeführt.

4.8. Berechnung der Analysenergebnisse

Die Cyanid-Konzentrationen im Probandenblut wurden folgendermaßen bestimmt :

Nachdem die Extinktionen mehrerer Analysen einer Blutprobe ermittelt waren, wurden die Extinktionswerte auf der Ordinate der Eichkurve Cyanid in Blut (s. Abb. 1) aufgesucht, und die zugehörigen Konzentrationen auf der Abscisse abgelesen. Bei den Schälchen, die mit 2 ml Blut und 1,2 ml Natronlauge angesetzt waren, mussten die gefundenen Konzentrationen um das reziproke Verhältnis der vorangegangenen Konzentrierung, a.h. 1,2 : 2, korrigiert werden. Für jede Blutprobe wurde aus den gefundenen Konzentrationen der Mittelwert errechnet.

4.9. Untersuchungsergebnisse

In den folgenden Tabellen 4 und 5 sind die Extinktionen und die zugehörigen Konzentrationen der Proben bei Rauchern und Nichtrauchern zusammengestellt. In der ersten Spalte sind die Probanden in der Reihenfolge, in der ihr Blut analysiert wurde, durchnummeriert. Bei den Rauchern ist in der nächsten Spalte die Anzahl der Zigaretten, die sie an dem Tag, an dem sie ihr Blut zur Verfügung stellten, bis zur Blutentnahme geraucht hatten, aufgeschrieben. In der dritten Spalte ist die Anzahl der Minuten notiert, die zum Zeitpunkt der Entnahme verstrichen waren, seit sie die letzte Zigarette geraucht hatten. In den nächsten Spalten sind die Extinktionen und die zugehörigen Konzentrationen eingetragen, die sich ergaben, nachdem aus jedem Conway-Schälchen die Cyanid-haltige Natronlauge, wie oben beschrieben, analysiert war. In der letzten Spalte ist der aus den einzelnen Konzentrationen errechnete Mittelwert notiert. Alle Konzentrationen sind in ng Cyanid / ml Blut angegeben.

Tabelle 4: Cyanid-Konzentrationen im Blut von Rauchern

Prob. Nr.	Anz.d. Zigar.	ver-gang. Zeit (Min)	Ansatz mit 1,5 ml Blut, 1,5 ml NaOH		Ansatz mit 1,5 ml Blut, 1,5 ml NaOH		$\bar{x}$ (ng/ml)
			Ext.	CN ⁻ -Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ -Konz. (ng/ml)	
1	6	15	0.035	25	0.045	34	32
			0.040	29	0.050	38	
			0.040	29	0.040	29	
			0.045	34	0.045	34	
2	5	30	0.035	25	0.035	25	29
			0.040	29	0.050	38	
			0.035	25	0.045	34	
3	20	60	0.030	21	0.030	21	24
			0.030	21	0.040	29	
4	15	15	0.035	25	0.045	34	31
			0.040	29	0.045	34	
5	6	15	0.020	13	0.018	12	15
			0.025	18	0.023	15	
			Ansatz mit 1,5 ml Blut, 1,5 ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut, 1,2 ml NaOH		
			Ext.	CN ⁻ -Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ -Konz. (ng/ml)	
6	5	45	0.040	29	0.045	20	25
			0.035	25	0.052	24	
7	8	0	0.040	29	0.060	29	31
			0.040	29	0.073	36	
8	10	60	0.060	48	0.100	51	49
			0.060	48	0.095	48	
9	3	15	0.085	71	0.140	74	71
			0.085	71	0.130	69	
10	5	30	0.065	53	0.100	51	53
			0.070	57	0.097	50	
11	5	0	0.050	38	0.087	43	40
			0.050	38	0.080	40	
12	6	30	0.060	48	0.103	53	48
			0.055	43	0.098	50	
13	4	60	0.040	29	0.060	29	28
			0.038	27	0.055	26	

Prob. Nr.	Anz.d. Zigar.	vergang. Zeit (Min)	Ansatz mit 1,5ml Blut, 1,5ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut, 1,2ml NaOH		$\bar{x}$ (ng/ml)
			Ext. CN ⁻	Konz. (ng/ml)	Ext. CN ⁻	Konz. (ng/ml)	
14	5	0	0.025	18	0.035	15	16
			0.023	15	0.038	17	
15	15	45	0.048	36	0.060	29	32
			0.043	32	0.063	30	
16	14	30	0.032	22	0.045	20	20
			0.025	18	0.040	18	
17	5	120	0.065	53	0.090	46	49
			0.065	53	0.090	46	
18	18	15	0.050	38	0.085	43	42
			0.045	43	0.090	45	
			Ansatz mit 2 ml Blut 1,2ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut 1,2ml NaOH		
			Ext. CN ⁻	Konz. (ng/ml)	Ext. CN ⁻	Konz. (ng/ml)	
19	10	0	0.125	65	0.133	70	70
			0.133	70	0.143	76	
20	2	0	0.057	27	0.049	22	25
			0.055	27	0.051	23	
21	5	0	0.092	49	0.102	53	51
			0.098	50	0.100	51	
22	17	60	0.055	26	0.052	24	24
			0.053	25	0.050	22	
23	8	30	0.098	50	0.098	50	49
			0.093	48	0.093	48	
24	3	60	0.095	48	0.092	47	50
			0.105	56	0.098	50	
25	8	30	0.155	83	0.155	83	86
			0.163	87	0.168	90	
26	15	0	0.062	30	0.070	34	31
			0.060	29	0.068	32	
27	25	15	0.125	66	0.130	69	64
			0.118	61	0.120	62	
28	4	0	0.080	40	0.082	41	43
			0.085	43	0.090	46	
29	15	30	0.045	20	0.048	22	20
			0.038	16	0.045	20	
30	10	45	0.080	39	0.085	43	42
			0.085	43	0.082	41	

Tabelle 5 : Cyanid-Konzentrationen im Blut von
Nichtrauchern

Prob. Nr.	Ansatz mit 1,5 ml Blut, 1,5 ml NaOH		Ansatz mit 1,5 ml Blut, 1,5 ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut, 1,2 ml NaOH		$\bar{x}$ (ng/ml)
	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	
1	0.015 0.020 0.025 0.020	10 13 17 13	0.020 0.015 0.015 0.015	13 10 10 10			12
2	0.030 0.025	21 18	0.020 0.025	13 18			17
3	0.075 0.085 0.080 0.080	62 71 67 67	0.080 0.070	67 57			65
4	0.015 0.020	9 13	0.010 0.015	7 9			9
5	0.050 0.050	38 38	0.040 0.045	29 34			35
6	0.080 0.080	67 67	0.085 0.080	71 67			68
7	0.050 0.050	38 38	0.055 0.060	43 48			42
8	0.085 0.090	71 76	0.080 0.080	67 67			70
9	0.040 0.030	29 21	0.040 0.035	29 25	0.050 0.040	22 18	24
10	0.095 0.100	81 85	0.085 0.095	71 81	0.170 0.165	91 88	83
11	0.040 0.040	29 29			0.060 0.072	29 35	31
12	0.050 0.050	38 38			0.075 0.080	37 40	38
13	0.017 0.025	11 18			0.030 0.037	13 16	15
14	0.017 0.017	11 11			0.032 0.027	13 11	12
15	0.043 0.053	32 41			0.085 0.092	43 47	41

Prob. Nr.	Ansatz mit 1,5ml Blut, 1,5ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut, 1,2ml NaOH		Ansatz mit 2 ml Blut, 1,2ml NaOH		$\bar{x}$ (ng/ml)
	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	Ext.	CN ⁻ - Konz. (ng/ml)	
16	0.070 0.065	57 53	0.100 0.100	53 53			54
17	0.085 0.080	71 67	0.135 0.130	71 68			69
18			0.060 0.067	29 32	0.055 0.052	25 24	28
19			0.085 0.087	43 44	0.078 0.073	39 36	41
20			0.112 0.117	58 61	0.105 0.108	56 56	58
21			0.062 0.060	30 29	0.065 0.058	32 27	29
22			0.055 0.065	26 32	0.060 0.065	29 32	30
23			0.047 0.045	22 20	0.054 0.050	25 22	22
24			0.052 0.050	24 22	0.062 0.055	30 26	26
25			0.050 0.050	22 22	0.045 0.055	20 26	23
26			0.068 0.072	33 35	0.063 0.060	30 29	32
27			0.100 0.100	51 51	0.110 0.105	57 54	53
28			0.055 0.050	26 22	0.047 0.045	21 20	22
29			0.115 0.120	60 62	0.105 0.110	54 57	58
30			0.105 0.095	56 48	0.090 0.100	46 51	50

5. Diskussion

Die durchschnittliche Cyanid-Konzentration im Blut von Rauchern lag bei 39,7 ng / ml, die der Nichtraucher bei 38,6 ng / ml. Für die Raucher errechnete sich eine Standardabweichung von 17,4 ng / ml und die Werte schwankten zwischen 15 ng / ml und 86 ng / ml. Bei den Nichtrauchern ergab sich eine Standardabweichung von 20,1 ng / ml, wobei die Werte zwischen 9 ng / ml und 83 ng / ml schwankten. Die beiden Durchschnittswerte 39,7 ng / ml und 38,6 ng / ml sind so geringfügig voneinander verschieden, daß es auch keinen Sinn hat zu untersuchen, ob die Zahl der gerauchten Zigaretten, oder die Zeit, die seit der letzten gerauchten Zigarette verstrichen ist, einen Einfluß auf die gefundenen Cyanid-Konzentrationen haben.

Die in der Literatur gemachten Aussagen über die hohe Abbaugeschwindigkeit von Cyanid konnten also experimentell bestätigt werden. Der Abbau erfolgt offensichtlich so schnell, daß Zigarettenrauchen auf den Cyanidspiegel keinen Einfluß hat. Die unterschiedlichen Cyanid-Konzentrationen bei den einzelnen Probanden sind also wahrscheinlich weniger auf unterschiedliche Aufnahme von Cyanid zurückzuführen. Vielleicht

bewirkt eine unterschiedliche Gleichgewichtslage der Cyanid-abbauenden Enzymsysteme verschieden schnellen Abbau.

Die gefundenen Mittelwerte lagen in der Größenordnung der bisher veröffentlichten Werte, die in Vollblut gemessen wurden. Der Durchschnittswert der Raucher ist kleiner als die von MAEHLY (1970), PETTIGREW, LOGAN und WILLOCKS (1976) und BALLANTYNE (1977) . Er ist größer als die Durchschnittswerte von WILSON und MATTEWS (1965) und von PETTIGREW und FELL (1972) . Der Durchschnittswert der Nichtraucher lag unter denen von MAEHLY (1970) und von PETTIGREW und FELL (1972) und über denen von WILSON und MATTEWS (1965), PETTIGREW, LOGAN und WILLOCKS (1976) und BALLANTYNE (1977) .

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 30 Rauchern und bei 30 Nichtraucher der Cyanidgehalt im Vollblut bestimmt. Cyanid wurde aus dem Blut durch Mikrodifffusion in Natronlauge überführt, mit Pyridin-Barbitursäure-Reagenz umgesetzt und anschließend photometrisch bestimmt. Bei Rauchern ergab sich ein Mittelwert von 39,7 ng Cyanid / ml Blut, bei Nichtrauchern von 38,6 ng Cyanid / ml Blut. Bei Standardabweichungen von 17,4 ng / ml bzw. 20,1 ng / ml ist demnach praktisch kein Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern festzustellen.

7. Literatur

Aldridge, W.N.

The estimation of microquantities of cyanid and thiocyanate.

Analyst (London) 70, 474 (1945)

Andrews, J.

Thiocyanate and smoking in pregnancy.

J. Obstet. Gynec. Brit. Commonw. 88, 810 (1973)

Baar, S.

The micro determination of cyanid : Its application to the analysis of whole blood.

Analyst 91, 268 (1966)

Ballantyne, B.

In vitro production of cyanid in normal human blood and the influence of thiocyanate and storage temperature.

Clin. Toxicol. 11, 173 (1977)

Ballantyne, B., Bright J., Williams, P.

An experimental assessment of decreases in measurable cyanid levels in biological fluids.

J. Forens. Sci. Soc., 13, 111 (1973)

Bark, L.S., Higson, H.G.

Investigation of the reagents for the colorimetric determination of small amounts of cyanid.

Talanta 11, 474 (1964)

Boxer, G.F., Rickards, J.C.

Chemical determination of vitamin B 12. The quantitative isolation and colorimetric determination of millimicrogram quantities of cyanid.

Arch. Biochem. 30, 372 (1950)

Boxer, G.E., Rickards, J.C.

Determination of thiocyanate in body fluids.

Arch. Biochem. 39, 292 (1952).

Conway, E.J.

Microdiffusion analysis and volumetric error.

D. Van Nostrand Co. New York (1950)

Feldstein, M.A., Klendshoj, N.C.

The determination of cyanid in biological fluids
by microdiffusion analysis.

J. Lab. Clin. Med. 44, 166 (1954)

Feldstein, M.A., Klendshoj, N.C.

Forens. Sci. 2, 39 (1957)

zit. : Stewart C.P. and Stoltman A.

toxicology

Volume I

Akademic Press New York and London 1960

Festl, P.

Dissertation, Erlangen, in Vorbereitung

Forth, W.

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxicologie

B. I. Wissenschaftsverlag Mannheim (1975)

Henschler, D.

Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxicologisch-
arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten.

Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße (1972-74)

Junge, B., Borgers, D., Berkholz, M.-B., Thefeld, W.,

Hoffmeister, H.

Thiocyanat im Serum als Indikator für die Schadstoff-
belastung durch Tabakrauch.

Arbeitsmed., Sozialmed., Präventivmed. 1, 13 (1978)

Maehly, A.C.

Cyanid and thiocyanate levels in blood and urin of workers with low-grade exposure to cyanide.

Int. Arch. Arbeitsmed. 27, 195 (1970)

Maliszewski, T.F., Bass, D.E.

True and apparent thiocyanate in body fluids of smokers and non-smokers.

J. Appl. Physiol. 8, 289 (1955)

Pettigrew, A.R., Fell, G.S.

Microdiffusion method for estimation of cyanid in whole blood and its application to the study of conversation of cyanid to thiocyanate.

Clin. Chem. 19, 466 (1973)

Pettigrew, A.R., Logan, R.W., Willocks, J.

Smoking in pregnancy - effects on birth weight and on cyanide and thiocyanate levels in mother and baby.

Br. J. Obstet. Gynec. 84, 31 (1977)

Schievelbein, H.

Nikotin

Thieme Verlag Stuttgart (1968)

Wilson, J., Matthews, D.M.

Metabolic inter-relationships between cyanid, thiocyanate and vitamin B 12.

Clin. Sci. 31, 1 (1966)

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling für die Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut und für die Übernahme des Korreferates bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher - v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung von Literatur, die vielen guten Ratschläge und ihren großen Aufwand an Zeit und Mühe für die Durchsicht meiner Arbeit.

Auch allen Assistenten und Laboranten im Rechtsmedizinischen Institut, die mir bei der Beschaffung von Chemikalien behilflich waren und mich in die Bedienung von Laborgeräten eingewiesen haben, möchte ich meinen Dank aussprechen.

Lebenslauf
von Wolfgang Alfred Schmutterer

Ich wurde am 8. März 1952 als Sohn des Vikars
Waldemar Schmutterer und seiner Ehefrau Irmgard
in Kipfenberg, Kreis Eichstätt geboren. Von 1958
bis 1962 besuchte ich die Volksschule in Dentlein a.F.
Von 1962 bis 1972 besuchte ich das Gymnasium in
Dinkelsbühl. Im Juni 1972 legte ich das Abitur ab.
Von 1972 bis 1973 legte ich meinen Grundwehrdienst
ab. Von SS 1974 bis zum WS 1980 studierte ich Medizin
an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.
Mein Staatsexamen legte ich am 22. April 1980 ab.
Meine Approbation als Arzte erhielt ich am 28. Mai 1980.
Seit 1. Oktober 1980 bin ich Assistenzarzt in Gunzen-
hausen.

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197